# 1993 年諾貝爾獎簡介

蔡蘊明譯

於 2012 年五月二十九日(歡迎轉載，但請註明出處)

本文譯自諾貝爾化學獎委員會公佈給大眾的新聞稿：

http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/press.html#

譯者前言：

今年正在教生命科學系與生化科技系的學生基礎有機化學，在準備與核酸的化學相關資料時，突然想起 1993 年的諾貝爾化學獎，正都是在表彰這方面掀起革命性發展的工作，若能將該年諾貝爾獎委員會提供的新聞資料翻譯出來，應可成為此領域很好的輔助教材，是而於十九年後特此為文。(本文特別感謝中央研究院生物醫學所趙麗洋教授幫忙審閱)

蔡蘊明謹誌於 2012/5/29

## 透過兩種新方法在基因技術上的決定性進展：

## 聚合酵素鏈鎖反應(PCR) 與定點突變

Karry B. Mullis 與 Michael Smith 為了研究遺傳物質的 DNA (去氧核糖核酸) 所各自研發的化學方法大幅加快了基因工程的發展。這兩種方法對於基礎生物化學的研究產生巨大的影響，並且在醫藥及生技上開啟了許多新的應用。

Mullis 的 PCR 方法已經有許多的應用，譬如說現在我們可以在幾個小時之內，將一個在複雜的遺傳物質上的某一特定 DNA 片段複製上百萬次。這對於生化及基因的研究而言是極為重要的，尤其是在醫療檢測上提供了一些新的機會，例如運用在發現 HIV 病毒或是造成遺傳性疾病的錯誤基因。研究者也可以利用 PCR 的方法，從化石中所找到的百萬年前就絕跡的動物之 DNA 加以複製。

在 DNA 分子中所寫入的遺傳密碼程式，決定了一個蛋白質中胺基酸的數目和順序，從而決定了此一蛋白質的功能。利用 Smith 的方法，可以改寫這個遺傳密碼程式，取代蛋白質中某些特定的胺基

酸，這被稱為定點突變。研究蛋白質分子的結構與功能的方法從根本產生了改變，這也包括建立具有新性質的蛋白質之可能性。許多的嘗試開始發展，例如去改進蛋白質的穩定度，使得它能忍受操作使用的條件，或是設計抗體來攻擊癌細胞，又或是製造能快速生長的農作物品種。蛋白質設計這個名詞，已經成為一個觀念。

## 背景

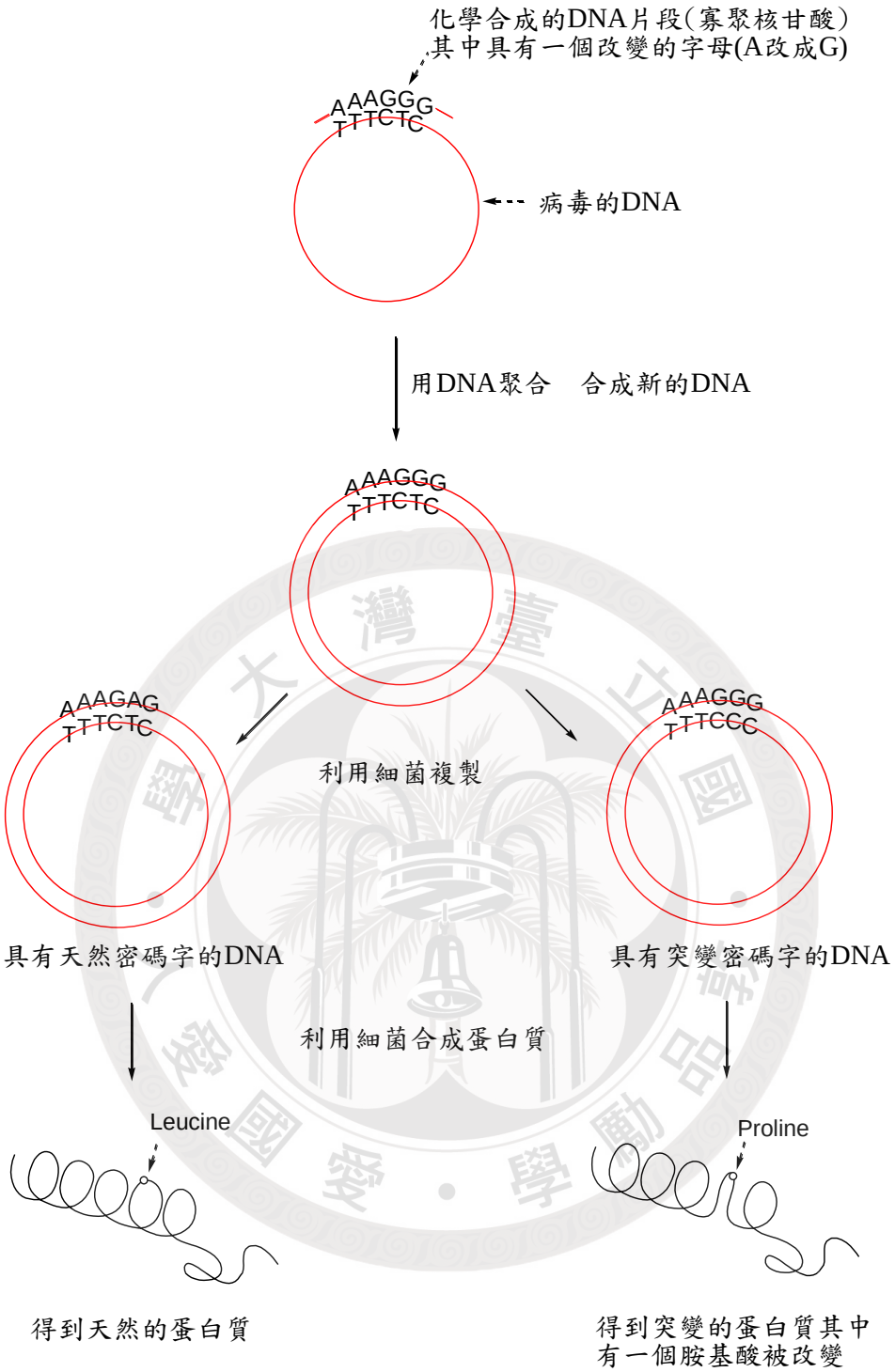
從化學來看，生物體的遺傳物質是由去氧核糖核酸(DNA)所組成。DNA 分子包含兩股非常長的帶子相互以螺旋的方式纏繞，每一股帶子都是由一種稱為核苷酸的小分子所組成，它代表遺傳物質的字母。總共有四個不同的字母，其代號為 **A**、**T**、**C** 和 **G**。兩股 DNA 是互補的，透過 **A-T** 和 **G-C** 的鍵結來結合，只有在遺傳密碼被讀取以製造蛋白質時，兩股才會分開。DNA 中的遺傳訊息包含一個由字碼組成的長句，每一個字碼是由三個字母組成，可以有許多的組合(例如 **CAG**，**ACT**，**GCC**)。在細胞中有一個特別的機器，可以翻譯每一個字碼成為組成蛋白質的二十個胺基酸其中的一個。實際上蛋白質才是讓細胞具有功能的物質，其中之一的功能是做為一個酵素(一種生物催化劑)，以使生命所需的所有化學反應能順利進行。蛋白質的三度空間結構以及相對應的功能，決定於各種胺基酸在蛋白質合成時連接的順序。

## 定點突變

基因訊息的傳遞是經由 DNA，透過翻譯分子：RNA 來轉譯成為蛋白質的。藉著重寫一個 DNA 分子的程式密碼，例如改變 **CAC** 這個字碼成為 **GAC**，就可以得到一個蛋白質，其中的胺基酸：組胺酸(histidine)，被另一個胺基酸：天門冬胺酸(aspartic acid)所取代。在自然界，這種基因物質程式的混合(突變)是隨機發生的，而且幾乎都會對生物造成致命的傷害。然而一個生化研究者的夢想，是改變一個 DNA 分子的字碼，以研究一個突變的蛋白質的性質與天然的有何差異。現在透過 Smith 以核苷酸為基礎的定點突變，使得這個夢想得以實現。

早在 1970 年代，Smith 學到如何用化學方法合成一些寡核苷酸(oligonucleotides)，那是種較短的單股 DNA 片段，他也研究了這些片段如何的與病毒的 DNA 結合。Smith 接著發現，即使合成的 DNA 片段其中的一個字母是錯誤的，它仍能與病毒的 DNA 結合在正確的位置，而且用來複製出含有改變密碼的新 DNA。在 1970 年代初期，Smith 在劍橋大學擔任訪問學者，流傳的故事是這樣的：在一個喝咖啡休息時間引發的討論中，出現了一個點子，那就是讓一個重新寫過程式的人工合成寡核苷酸與一個 DNA 分子結合，然後用一個適當的宿主來複製，如此所得之突變種接著可用來製造一個結構經過修改的蛋白質(圖一)。

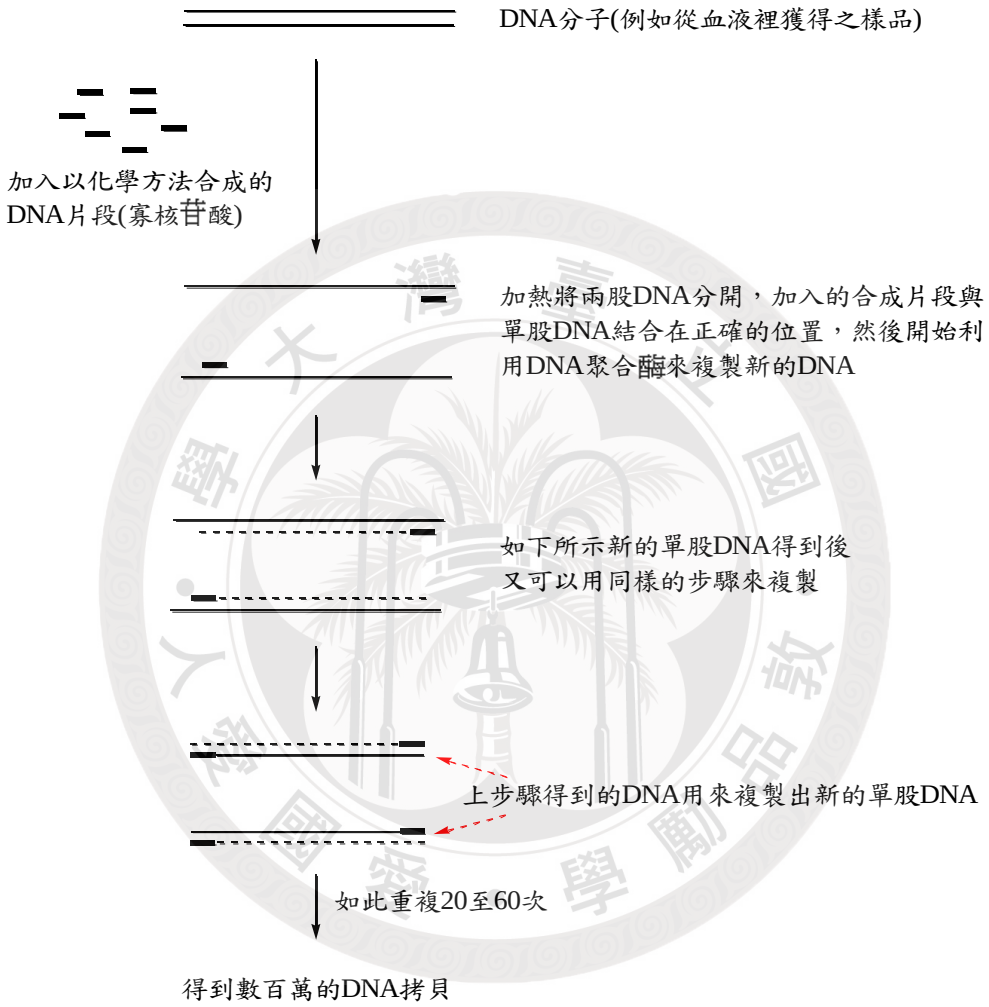
到了 1978 年，Smith 與他的合作者真正的履行了此一想法，他們成功的在一個噬菌體病毒(可以感染細菌而在細菌體內繁殖)中引發一個突變，接著“修補”這個突變，讓它恢復原來的性質。四年之後，Smith 和他的同事們第一次的展示了製造和分離出大量的突變種酵素之能力，此酵素之中含有一個被設計而改變的胺基酸。




**圖一**　一個具有突變胺基酸的蛋白質，可以利用定點突變來製造。首先，一個以化學方法合成的 DNA 片段，其中有一個密碼字的字母被改變，現在將此片段與病毒的 DNA 結合，送入細菌去複製，那一股含有改變的密碼之 DNA 也會被複製，並用來製造出改變的蛋白質。

Smith 的方法創造出了一個全新的方法來研究蛋白質運作的細節，是什麼決定它們三維的結構？它們又如何的與細胞內的其它分子作用？定點突變毫無疑問的革新了基礎的研究，而且完全改變了研究者進行實驗的方法。此一方法也對生物科技非常重要，因為引入了蛋白質設計的概念，也就可能

製造具有某些理想性質的蛋白質。譬如說現在已經可以改進一個酵素的穩定度，這個酵素可以是洗衣精裡面的一個有效成分，因此它必須能耐受其它的化學物質，以及洗衣服時可能使用的高溫。也有一些人嘗試以生物技術製造一個突變的血紅蛋白，那可能給我們一種新的方法來取代血液。藉著免疫系統中的蛋白質突變，研究人員在建立可以摧毀癌細胞的抗體上有長足的進展。未來也有見到基因療法的機會，藉著修正遺傳物質的某些密碼來治療遺傳性的疾病。對植物蛋白質的定點突變，有可能開啟機會來產生能更有效率在光合作用時，運用大氣中二氧化碳的農作物。




圖二　PCR 的方法可以用來複製部份的 DNA 分子，例如從一個血液所得之樣本，當此程序重複 20-60 次時，就可以在數小時內得到數百萬份 DNA 的拷貝。

## 聚合酵素鏈鎖反應(PCR)

雖然 PCR 的技術最早也不過是在 1985 年問世，但它卻已經成為在分析 DNA 上最廣為流傳的方法之一。透過 PCR 可以在一個試管中，將複雜的基因物質中之一個單獨的 DNA 片段複製幾百萬次。Mullis 曾描述他如何在一個夜間，於加州山裡開車時得到 PCR 的靈感：先合成兩股短的寡核苷酸，這兩個寡核苷酸可以分別與想要複製的兩股互補的 DNA 片段結合，加入的酵素(DNA 聚合酶)與這兩股 DNA 接觸時，就會開始讀取遺傳密碼，並將遺傳密碼字連接上去而得到兩股新的 DNA，接

著加熱此試樣以將兩股 DNA 分開，以便讀取和複製。這個步驟如此不斷重複，每一次的複製之後，都可以讓要複製的 DNA 片段數目增倍。透過如此重複的循環，就可以在幾個小時內，得到數百萬份欲複製的 DNA 片段之拷貝(圖二)。整個過程非常簡單，理論上只需要一根試管和一個加熱裝置，不過目前已經有市售的 PCR 裝置，讓整個步驟更精確的自動化處理。

與定點突變一樣，PCR 方法決定性的改進了基礎研究的前景。基因的定序與複製大幅簡化，PCR 也讓 Smith 的定點突變方法更有效率。因為 PCR 可以用來分析極微量的試樣，這使得不同物種在基因與演化上的關係較易決定。非常可能的，PCR 與 DNA 定序的結合，將成為一個革命性的新工具來研究植物與動物物種的系統分類。

PCR 方法在生醫上早已有許多的運用，現在人們可以發現在一個生物體內存在的極微量異種 DNA。病毒與細菌感染的診斷，例如判斷是否有愛滋病毒的感染，不需要曠日費時用病人樣品的微生物培養方式，現在可以使用 PCR。此法也可利用來找出遺傳性疾病在基因上突變的位置，因此 PCR 就如同定點突變，有極大的潛力來進行基因治療。若沒有 PCR 方法，著名的 HUGO 計劃(人類以及其它物種的基因定序計劃)將不可能實現。在犯罪調查上，PCR 方法現在可以提供決定性的數據，因為現在可以從在犯罪現場收集到的一根毛髮來做 DNA 分析。

另一精彩的運用，是可以大量製造從化石遺跡得到的 DNA。例如研究學者成功的利用 PCR，從琥珀中萃取出的 DNA，取得在兩千萬年前滅絕的昆蟲之遺傳資料。這也激發了科幻小說作者之靈感，非常著名的“侏儸紀公園”就是在描繪一些研究人員，重新培養出已經滅絕的巨大恐龍所造成的恐慌。

**譯者後記：**

將近二十年後來翻譯這篇文章，促使我興起念頭搜尋了一番有關“定點突變”和“PCR”在這約二十年中(1993-2012)的發展。利用化學家們常用的專業資料庫 SciFinder 來查詢，有約 7 萬 5 千筆論文資料與定點突變這個觀念有關。改以 PCR 來搜尋，更有高達約 73 萬筆的文獻；若用 Google 來查 PCR，跳出約 7 千萬筆資料。這些數字所顯示的是這兩種技術在生化的研究、疾病的檢測和醫療等等方面對人類持續的影響。的確，若非這兩種生化技術的開發，許多生化及醫藥的研究是不可能有今日的發展。

定點突變在 1993 年之後沒有太大的改變，但它對基因以及蛋白質的基礎研究非常重要。由於合成技術和儀器的發展，早已有許多公司成立，專門為科學家合成小片段的寡核苷酸以供研究之需。上文中對基因治療(gene therapy)寄予厚望，然而科學的進展常是緩慢的，定點突變只是其中的一個環節。約二十年後的現在，在美國，基因治療仍在人體實驗的階段，還有許多重要的問題需要克服。

從上述的搜尋數字就可看出，PCR 的技術更是影響巨大，因為它與人們生活的關係更為貼近，例如疾病檢測、親子鑑定或是犯罪防治等等。在 1993 年以後，對此技術的改良導致了即時 PCR (real-time PCR)  或稱為定量 PCR (quantitative PCR or qPCR)的出現，使得 PCR 更為快速而精準。自 1996 年第一台 qPCR 機器上市，現在市場上已有各種品牌，成為生醫研究必備的機器。

透過化學合成的進步，加上 PCR 以及許多關鍵的技術，科學家正朝著“合成生物學”(synthetic biology)邁進，透過基因工程合成新的基因，建立在自然界不存在的生物體系。上文已提及，遺傳密碼是由三個字母組成，總共使用四個字母(A、T、G、C)，簡單的排列組合告訴我們共可組合出 64 組密碼，其中 20 個用來代表那 20 個天然的胺基酸即可，加上一個停止碼，還剩 43 組密碼可以用來代表各種非天然的胺基酸，這就給了我們機會去創造出一些具有特殊功能的非天然蛋白質；若創造出一個新的字母，字碼將立刻膨脹成 125 組。今年四月份在 Science 期刊上，更可看到有科學家將 DNA 中的核糖都做了更改，且仍具有遺傳和演化的能力，創造出“合成基因”。這些都是令人雀躍的想法，其最終期待能解決疾病的問題和回答生命的奧秘。然而科學家在這方面仍在起點不遠，還有許的問題需要瞭解和克服。其中一個關鍵在於現在仍無法有效率並且精準的合成巨大的 DNA 分子，我期待在這方向上能如同定點突變和 PCR 一般，當時機到來，某一位科學家會因為突然而來的靈感造成另一波的技術革新。別忘了，靈感的背後當然是要靠持續不斷的努力。

噢！對了，在科學文明的背後，“合成生物學”對人類社會道德的挑戰，更會是未來不斷爭議的課題！

**參考資料**


有關基因治療： http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/genesandgenetherapy.html

有關合成生物學： Mueller, S; Coleman, J. R.; Wimmer, E. “Putting Synthesis into Biology: A Viral View of Genetic Engineering through De Novo Gene and Genome Synthesis” *Chemistry & Biology* **2009**, *16*, 337–347.

有關合成基因： Pinheiro, V. B.; Taylor, A. I.; Cozens, C.; Abramov, M.; Renders, M.; Zhang, S.; Chaput, J. C.; Wengel, J.; Peak-Chew, S.-Y.; McLaughlin, S. H.; Herdewijn, P.; Holliger, P. “Synthetic Genetic Polymers Capable of Heredity and Evolution” *Science* **2012**, *336*, 341–344.